

菊粉寡糖促进嗜酸乳杆菌生长的研究*

张帆 王建华 刘立恒 杨雅麟 滕达

(中国农业科学院饲料研究所,国家饲料工程技术研究中心,北京,100081)

摘要 对菊粉可促进嗜酸乳杆菌的生长进行了初步研究。结果表明,用菊粉代替培养基中部分葡萄糖,嗜酸乳杆菌的生长得到明显的促进,当 MRS 培养基中葡萄糖与菊粉的质量比为 1:1 时,嗜酸乳杆菌的生物量及酸度得到提高,在 37℃ 下培养 48 h,活菌的数量及酸度比对照组分别提高 10^{10} CFU/mL 和 10°T。

关键词 菊粉 嗜酸乳杆菌

嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)属革兰氏阳性菌,杆状、两端圆,通常为 $(0.6 \sim 0.9) \times (1.5 \sim 6) \mu\text{m}$,以单个、成双和短链出现,不运动,无鞭毛。其最适生长温度为 35 ~ 38℃,最适 pH 为 5.2 ~ 6.18,是人体肠道中的重要微生物,它能调节人体肠道内微生物菌群平衡,增强机体免疫力,降低胆固醇水平,缓解乳糖不耐症以及抑制肿瘤细胞的形成,有利于控制成人和儿童腹泻等,对人体健康特别是对维持胃肠道正常生理功能具有重要作用。菊粉是果糖聚合物,存在于多种植物和微生物中,可刺激人或动物肠道内双歧杆菌及乳酸菌的增殖,抑制腐生菌和某些病原菌在肠道的生长和繁殖,能够显著降低结肠细胞癌变发生率。笔者研究了以菊粉作为培养基碳源对嗜酸乳杆菌生物量和产酸量的影响。

1 材料与方法

1.1 培养基

1.1.1 菌种

嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)购于中国农业科学院土肥所,为斜面菌种,代号“土 54”,简称 LA-1;Mjll 为本室保存的嗜酸乳杆菌菌株,简称 LA-2。

1.1.2 培养基

MRS(琼脂)培养基:蛋白胨 10 g,酵母提取

物 5 g,牛肉膏 10 g,葡萄糖 20 g,乙酸钠 5 g,柠檬酸二铵 2 g,Tween80 1 mL, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.58 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g, K_2HPO_4 2 g,琼脂粉 17 g,水 1 000 mL,灭菌前自然 pH 6.12 ~ 6.2,于 121℃, 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

发酵培养基(MRS 改良配方):在 MRS 其他成分不改变条件下,用菊粉代替部分或全部葡萄糖,葡萄糖和菊粉的比例分别为 $M_1 = 20:0$, $M_2 = 15:5$, $M_3 = 10:10$, $M_4 = 0:20$ 。

1.1.3 主要设备

超净工作台(苏净集团安泰公司),752 型紫外/可见分光光度计(上海精密科学仪器厂),生化培养箱(LRH-250-A,广东省医疗器械厂),生物显微镜(日本尼康)等。

1.2 实验方法

1.2.1 生长曲线的测定

取 32 个 50 mL 的三角瓶(每组各 16 个),各装入 30 mL 的 MRS 培养基,于 121℃, 1×10^5 Pa 灭菌 20 min,每个三角瓶中接入 5% 已多次活化的菌悬液,密封,编号,37℃ 下静置培养 48 h,每隔 3 h 取出相应编号的发酵液瓶,稀释涂平板,测活菌数和酸度。

1.2.2 酸度的测定

取 10 mL 发酵液加入 20 mL 蒸馏水和 5 滴 1% 的酚酞指示剂。用 0.1 mol/L NaOH 滴定至粉红色,滴定的体积(mL)数乘以 10 即为该

第一作者:学士,助理研究员(王建华为通讯作者)。

* 国家 863 计划 2001AA246041 和 2004AA246040

收稿时间 2003-11-10

发酵液的酸度值。

1.2.3 pH 值的测定

用精密 pH 计直接测定。

1.2.4 活菌计数

涂布 ,用微量进样器取 100 μ L 稀释度不同的菌悬液滴于平板上 ,37 $^{\circ}$ C 下培养 30 h ,计数。

1.2.5 培养基起始 pH 值的调配

用 0.1mol/L 的 HCl 滴定 ,在精密 pH 计下测定 pH 值。

2 结 果

2.1 MRS 培养基改良后最佳组分的选择

调整 M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 的起始 pH 值分别为 5.5 和 5.3 ,接种 LA-1(接种量 1%) 培养 26 h 后 ,测活菌数变化(图 1)。从图 1 可以看出 ,在培养基中加入菊粉 ,在其他条件不变的情况下 ,LA 的生物量比没有加入菊粉的高 ,尤其是 M_3 号培养基 $m(\text{葡萄糖}):m(\text{菊粉})=1:1$ 最适合于 LA 生长 ,不论起始 pH 自然还是调到 5.5 和 5.3 ,液体培养 26 h 后 ,其活菌数都高于其他 3 种 ,最高达 6.095×10^8 CFU/mL ,比 M_1 、 M_2 、 M_4 分别高出 0.365、0.291、0.104(起始 pH 自然 ,对数值比较) ,说明添加一定量的菊粉对嗜酸乳杆菌的生长有明显促进作用。

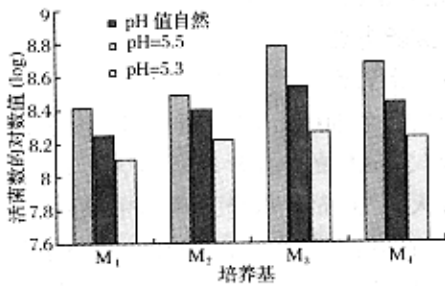


图 1 嗜酸乳杆菌 (LA-1) 在 4 种培养基中生物量变化

在其他条件不变的情况下 ,调配起始 pH 值分别为 5.5 和 5.3 ,接种 LA-1 ,发酵至 26 h 后 ,低于 pH 值为自然时的生物量 ,说明嗜酸乳杆菌在 pH 值为 5.3 和 5.5 的环境中 ,其生物量虽然能达到 10^8 CFU/mL 以上 ,但生长的速度还是减慢了。因此在发酵时最好选择起始

pH 值自然 (pH 6.12~6.20)。

调整 M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 的起始 pH 值为 5.3 ,接种 2 种不同的菌株 ,26 h 后比较 pH 值的变化情况(图 2)。从图 2 看出 ,培养 26 h 后 4 种发酵培养基中 M_3 的 pH 降低最快 ,说明 LA-1、LA-2 在此培养基中产酸速度较其他培养基中快 ,进一步说明 $m(\text{葡萄糖}):m(\text{菊粉})=1:1$ 的配比对 2 种菌的生长比较有利。

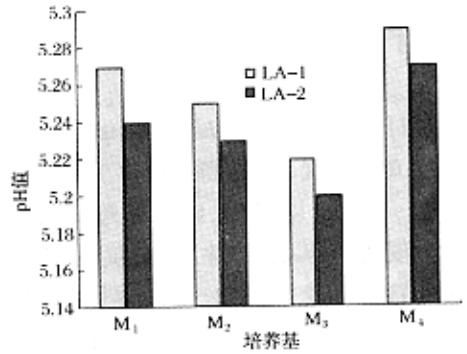


图 2 不同菌株在 4 种培养基中的 pH 值变化

2.2 嗜酸乳杆菌在 M_1 和 M_3 培养基中的生长曲线(接种量 5%)

从图 3 和图 4 看出 ,嗜酸乳杆菌的生长和产酸速度都比较平缓 ,前几个小时内基本稳定 ,12 h 后进入对数生长期 ,21 h 左右达最大值 ,此后生物量趋于平稳略有下降 ,但酸度缓慢增加 , M_3 中细菌生物量和酸度值始终都高于 M_1 的 ,在 M_3 中嗜酸乳杆菌的酸度值最高达 148 $^{\circ}$ T ,活菌数最高达 7.59×10^{10} CFU/mL。说明培养基中添加菊粉使细菌生物量和产酸度都得到明显提高 ,显然酸度的提高主要是来源于生物量的

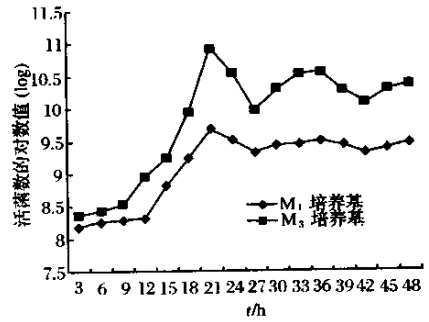


图 3 嗜酸乳杆菌在 2 种培养基中的生长曲线

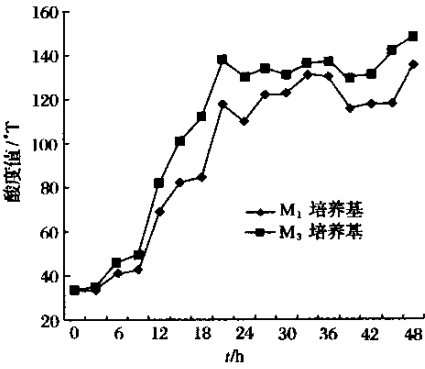


图 4 嗜酸乳杆菌在两种培养基中酸度的变化

增加。说明在该细菌的工业化生产培养基中添加 50% 菊粉替代原先碳源,对于获得更高生物量具有促进作用,也是菊粉可以作为动物微生物生态制剂的一个支持性结果。

参 考 文 献

- 1 凌代文,东秀珠等编.乳酸菌分类鉴定及实验方法[M].北京:中国轻工业出版社,1999
- 2 杨洁彬,郭兴华.乳酸菌生物学基础及应用[M].北京:中国轻工业出版社,1996
- 3 魏华,徐锋.鼠李糖乳杆菌的生物学特性及发酵性能研究[J].食品与发酵工业,2001,27(9):11~15
- 4 吕加平,宋晓飞.嗜酸乳杆菌优良菌株的筛选及其生物学形状的研究[J].中国乳品工业,2001,29(4):

- 9~11
- 5 张功,王瑞君.平菇浸汁促进嗜酸乳杆菌生长的研究[J].微生物学通报,2002,29(4):65~67
- 6 康白.微生物学原理[M].大连:大连出版社,1996
- 7 Bezkorovainy A.Probiotics:determinants of survival and growth in the gut[J].Am J Clin Nutr,2001,73(2 Suppl):399S-405S
- 8 Femia A P, Luceri C, Dolara P et al. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on a-zoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats[J].Carcinogenesis,2002,23(11):1953~1960
- 9 Kleessen B, Hartmann L, Blaut M.Oligofructose and long-chain inulin influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora[J].Br J Nutr,2001,86(2):291~300
- 10 Muller M, Lier D.Fermentation of fructans by epiphytic lactic acid bacteria[J].J Appl Bacteriol,1994,76(4):406~411
- 11 Pool-Zobel B, van Loo J, Rowland I. Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer[J].Br J Nutr,2002,87(2):273~281
- 12 Vandenplas Y.Oligosaccharides in infant formula[J].Br J Nutr,2002,87(2):293~296

Effect of Inulin on Growth and Reproduction of *Lactobacillus acidophilus*

Zhang Fan Wang Jianhua Liu Liheng

Yang Yalin Teng Da

(Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences;
National Feed Engineering Technology Research Center, Beijing, 100081)

ABSTRACT The present study shows that fructose has a significant effect on growth of *Lactobacillus acidophilus*. The incubation of MRS, which contains inulin, would promote the counts of *Lactobacillus acidophilus* and the degrees of lactic acid. The cell counts and lactic acid degrees of *Lactobacillus acidophilus* can reach 10^{10} CFU/mL and 10° T which were much higher than in control groups at 37°C for 48h.

Key words inulin, *Lactobacillus acidophilus*